درجه‌بندی یا کالیبراسیون

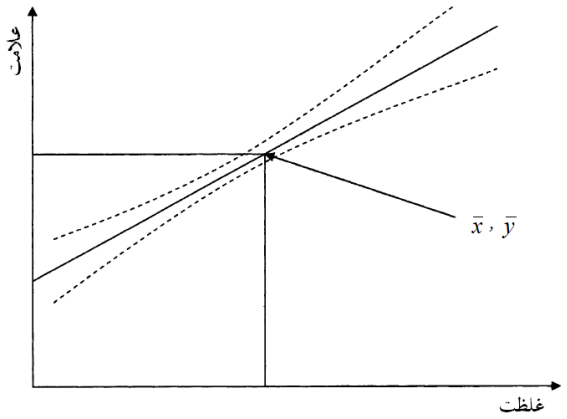
در عمل، روش‌های طیف‌سنجی اتمی و ICP-MS، روش‌های مطلق نیستند، بلکه روش‌های نسبی‌اند. یعنی، فقط از طریق مقایسهٔ محلول‌های نمونه (یا نمونهٔ جامد) با محلول‌های مرجع (یا مواد جامد مرجع)، نتایج کمّی می‌تواند به‌دست آورده شود. انتخاب روش‌های درجه‌بندی و مواد مرجع مناسب، برای حذف مزاحمت‌ها بسیار مهم است. تغییرات دراز مدت یا تغییر از یک سری نمونه به سری دیگر، می‌تواند با انتخاب روش درجه‌بندی بسیار مناسب، به‌حداقل برسد.

روش منحنی درجه‌بندی

در این روش، محلول‌های نمونه مستقیماً با مجموعه‌ای از محلول‌های مرجع (استاندارد) مقایسه می‌شوند. از رسم پاسخ دستگاه، یعنی میزان جذب خوانده شده برای محلول‌های استاندارد برحسب غلظت، منحنی درجه‌بندی به‌دست می‌آید. در روش FAAS، میزان جذب محلول شاهد (محلول سفید یا بلانک) صفر است، درحالیکه میزان جذب غلیظ‌ترین استاندارد باید برابر یا بیشتر از میزان جذب غلیظ‌ترین محلول نمونه باشد. روش منحنی درجه‌بندی یک روش درج است، یعنی میزان جذب قرائت شده برای همهٔ محلول‌ها باید بین میزان جذب رقیق‌ترین و غلیظ‌ترین محلول‌های استاندارد باشد. برای دسترسی به بیشترین صحت، میزان جذب محلول‌های استاندارد قبل و بعد از محلول‌های نمونه تعیین می‌شود. اگر تعداد نمونه‌ها زیاد باشد، میزان جذب محلول‌های استاندارد در فاصله‌های زمانی منظمی اندازه‌گیری می‌شود. برای اطمینان از پایداری خط پایه، میزان جذب محلول شاهد بین محلول‌های استاندارد و نمونه تعیین می‌شود.

طیف‌سنج‌های جدید درجه‌بندی را به‌طور خودکار تعیین کرده و نتایج تجزیه‌ای نمونه‌ها را با واحدهای مورد نظر (مثلاً وزن نمونه) ارائه داده و ضرایب رقت را نیز در محاسبات لحاظ می‌کنند. به‌علت نور جذب‌نشده در سیستم، محدودهٔ خطی اندازه‌گیری‌های جذب، فقط در گسترهٔ غلظت معینی مشاهده می‌شود. در اندازه‌گیری‌های نشری (مانند ICP-AES) پاسخ دستگاه در گسترهٔ غلظت وسیعی خطی است. بااین‌وجود، در غلظت‌های بیشتر، به‌علت خودجذبی[1] و پاسخ غیرخطی آشکارساز، غیرخطی بودن مشاهده می‌شود. برازش[2] داده‌های درجه‌بندی، معمولاً با استفاده از روش حداقل مربعات[3] انجام می‌شود. در شکل پایهٔ برازش حداقل مربعات خطی، فرض می‌شود که خطاهای تصادفی در پاسخ‌های اندازه‌گیری شده، در گسترهٔ درجه‌بندی مورد استفاده ثابت است (خطاها واریانسی برابر، σ^2، دارند، داده‌های واریانس همسانی[4]). با درست بودن این فرض، همهٔ نقاط منحنی درجه‌بندی وزن برابری داشته و خطاها در غلظت برآورد شده، در اطراف قسمت وسط منحنی درجه‌بندی، حداقل است (شکل ۱).

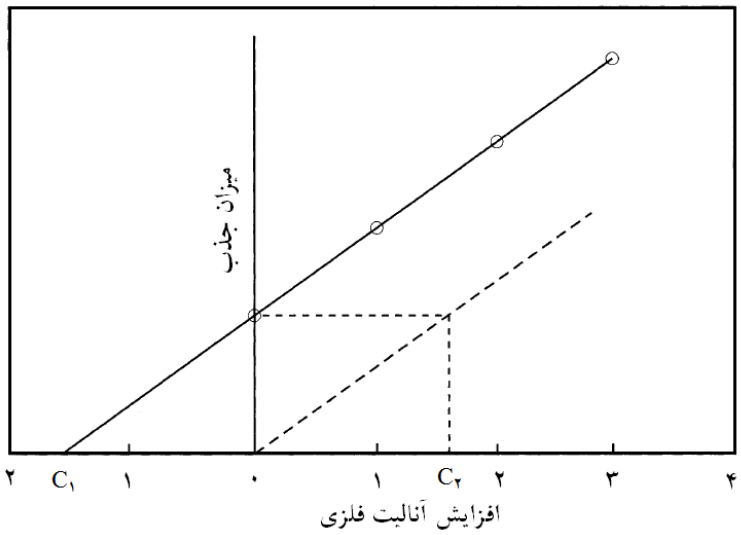
[1] . Self-absorption
[2] . Fitting
[3] . Method of least squares
[4] . Homoscedastic



شکل ۱. حدود اطمینان یک تابع درجه‌بندی خطی ($y = a + bc$)
با این فرض که واریانس هر پاسخ برابر است (لاجونن، ۲۰۰۴).

روش افزایش استاندارد

غلبه بر اثرات بافت نمونه با استفاده از استانداردهای مشابه، در هر زمانی (به‌ویژه اگر ساختار کلی نمونه ناشناخته باشد) امکان‌پذیر نیست. برای نمونه‌های پیچیده که اثرات بافت را نمی‌توان حذف کرد، باید از روش افزایش استاندارد استفاده شود. محلول نمونه حداقل به سه حجم مشخص تقسیم شده و به همهٔ آن‌ها (به‌غیر از یکی) مقادیر افزاینده‌ای از عنصر آنالیت اضافه می‌شود. سپس، همهٔ محلول‌ها به حجم یکسانی رسانده می‌شوند. محلول‌ها مورد اندازه‌گیری قرار گرفته و نمودار میزان جذب آن‌ها برحسب غلظت آنالیت رسم می‌شود (شکل ۲). میزان جذب‌های اندازه‌گیری شده به واسطهٔ غلظت آنالیت در محلول‌های نمونه، با جذب و پراکندگی زمینه (جذب و پراکندگی محلول نمونهٔ اصلی) جمع می‌شود. میزان پراکندگی باید با یکی از روش‌های تصحیح زمینه، تصحیح شود. منحنی درجه‌بندی واقعی موازی منحنی به‌دست آمده با روش افزایش استاندارد است، با این تفاوت که از میزان جذب صفر می‌گذرد. همان‌طور که در شکل (۲)، نشان داده شده است، غلظت آنالیت از محل تقاطع محور غلظت، یعنی C۱ در منحنی افزایش استاندارد و C۲ در منحنی درجه‌بندی واقعی به‌دست می‌آید. روش افزایش استاندارد، یک روش قیاسی است و معمولاً صحت آن به خوبی روش درجه‌بندی واقعی نیست. طیف‌سنج‌های مجهز به ریزپردازنده برنامهٔ روش افزایش استاندارد را ضمیمه‌شده دارند، که باعث افزایش صحت این روش می‌شود.



شکل ۲. روش افزایش استاندارد.

استانداردهای درونی

وقتی از استانداردسازی درونی استفاده شود، نسبت علامت‌های خط طیفی آنالیت و خط طیفی استاندارد درونی اندازه‌گیری می‌شود. این روش در ICP-AES که استاندارد درونی یا عنصر اصلی موجود در بافت نمونه، یا غلظت مشخصی از عنصر اضافه شده است (نمونه نباید دارای عنصر افزوده شده باشد)، به‌خوبی شناخته شده است. برای به‌دست آوردن نتایج صحیح، عنصر افزوده شده به‌عنوان استاندارد درونی، باید خواص فیزیکی و شیمیایی دقیقاً یکسانی با عنصر آنالیت داشته باشد، تا از عملکرد آن در سیستم تجزیه‌ای اطمینان حاصل شود. تغییرات کوچکی در خواص فیزیکی نمونه که راندمان ورود نمونه را تحت تأثیر قرار می‌دهد، معمولاً به‌آسانی با استانداردسازی درونی تصحیح می‌شود. ولی، اگر بافت نمونه روی خواص برانگیختگی پلاسما مؤثر باشد، برانگیختن خط طیفی آنالیت و خط طیفی استاندارد درونی باید به یک اندازه تحت تأثیر قرار بگیرند.

در عمل، به‌ویژه زمانی که از عناصر استاندارد درونی رایج، مانند اسکاندیم و ایتریم استفاده شود، این وضعیت به‌ندرت درک می‌شود. زمانی که از یک دستگاه دوکانالی (یا چندکانالی) استفاده شده و اندازه‌گیری در دو یا چند طول‌موج امکان‌پذیر باشد، می‌توان استانداردسازی درونی را به‌کار گرفت. در AAS، این روش تغییرات کوچک در مهپاش و عملکرد شعله، که با طیف‌سنج‌های دوپرتویی تصحیح نمی‌شوند، را حذف می‌کند.